Aus der Medizinischen Klinik der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. Norbert Henning

Über die Harnausscheidung der Vanillinmandelsäure und anderer Phenolsäuren bei Lebergesunden und Leberkranken und ihre Beeinflussung durch Glukagon

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
WERNER JOHN
aus Eschwege

1964

1965 № 27

Dekan: Professor Dr. med. G. Theissing

Referent: Professor Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Mai 1964

Sonderdruck

Zeitschrift für

GASTROENTEROLOGIE

Klinik und Praxis der Verdauungskrankheiten

Herausgeber: N. Henning, Erlangen, Krankenhausstraße 12

Schriftleitung: K. Heinkel und E. Schmid, Erlangen, Krankenhausstraße

Verlag: Karl Demeter, Gräfelfing/München, Würmstraße 13

Jahrgang 2 (1964) Heft 4 214—216

Aus der Medizinischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning)
der Universität Erlangen-Nürnberg

Über die Ausscheidung der Vanillinmandelsäure und anderer Phenolsäuren im Harn bei Lebergesunden und Leberkranken und ihre Beeinflussung durch Glukagon*) **)

von E. SCHMID, L. ZICHA und W. JOHN***)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

*) Herrn Prof. Dr. med. *F. Eichholtz* zum 75. Geburtstag gewidmet.
**) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.
***) D 29

Nach früheren Versuchen unserer Arbeitsgruppe ist die oxydative Desaminierung biogener Amine bei Leberkrankheiten nicht beeinträchtigt *[12,14]*. Für die Inaktivierung phenolischer Amine durch O-Methylierung, die in der Leber durch die O-Methyltransferase in Gegenwart von Mg^{++}-Ionen und S-Adenosylmethionin erfolgt *[1,2,8]*, fehlten bisher entsprechende Untersuchungen. Daher sollte die Ausscheidung der Vanillinmandelsäure im Harn leberkranker und lebergesunder Versuchspersonen quantitativ geprüft werden. Ferner sollte untersucht werden, ob Glukagon die Ausscheidung des Katecholamin-Metaboliten im Harn lebergesunder und leberkranker Versuchspersonen zu beeinflussen vermag.

Methodik

Die Untersuchungen wurden an 30 Klinikpatienten mit Krankheiten der Leber (7mal Zirrhose, 14mal akute bzw. chronische Hepatitis, 2mal Fettleber sowie je 1mal Metastasenleber bzw. intrahepatische Cholestase), 25 lebergesunden Patienten mit Krankheiten des Magen-Darm-Kanals bzw. des Herz-Kreislauf-Systems und 30 gesunden Kontrollpersonen vorgenommen.

Die Probanden sammelten nach 12stündiger Nahrungskarenz nüchtern vormittags für 2–4 Std. den Harn. Bei je 23 Lebergesunden und Leberkranken schloß sich eine 2. Harnsammelperiode von 2 Std. nach i. v. Injektion von 1 mg Glukagon (Eli Lilly & Co, Indianapolis, USA****) an. Gleichzeitig wurden die Blutzuckerkonzentrationen vor und 10, 20, 30, 45, 60 und 90 min nach Glukagon-Injektion enzymatisch bestimmt.

Die Untersuchungen der Harnausscheidung an 3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure (Vanillinmandelsäure) erfolgten in Doppelversuchen mit der dünnschichtchromatographischen Trennung saurer Harnmetaboliten nach *Schmid* und *Henning [13]*. Semiquantitative Kontrollen der 3-Methoxy-4-hydroxybenzoesäure (Vanillinsäure), der p-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxymandelsäure sowie der Ferulasäure wurden mit dünnschichtchromatographischen Trennungen im alkalischen Fließmittelsystem und im System Benzol : Methanol : Eisessig (8 : 1 : 1; zweimalige aufsteigende Chromatographie, Kammersättigung) vorgenommen.

Ergebnisse

30 gesunde Versuchspersonen schieden in den Vormittagsstunden zwischen 69 und 365 μg Vanillinmandelsäure/Std., im Mittel 176 $\pm$ 68 μg/Std. aus; Mittelwert und Streubereich entsprachen den Werten anderer Vergleichsgruppen Gesunder *[11]*. Bei 25 Patienten mit Leberkrankheiten fanden wir Mengen von 42–473 μg,

****) in Deutschland: Eli Lilly GmbH, Gießen

durchschnittlich 123 ± 106 µg Vanillinmandelsäure/Std., bei 25 lebergesunden Klinikpatienten Werte zwischen 46 und 344 µg, im Mittel 126 ± 71 µg Vanillinmandelsäure/Std. Die Differenzen der Mittelwerte von Gesunden und Klinikpatienten waren statistisch gesichert ($P < 0{,}03$ bzw. $< 0{,}02$); zwischen den Kollektiven lebergesunder und leberkranker Klinikpatienten bestanden jedoch keine Unterschiede in der Harnausscheidung des Katecholamin-Metaboliten (Abb. 1).

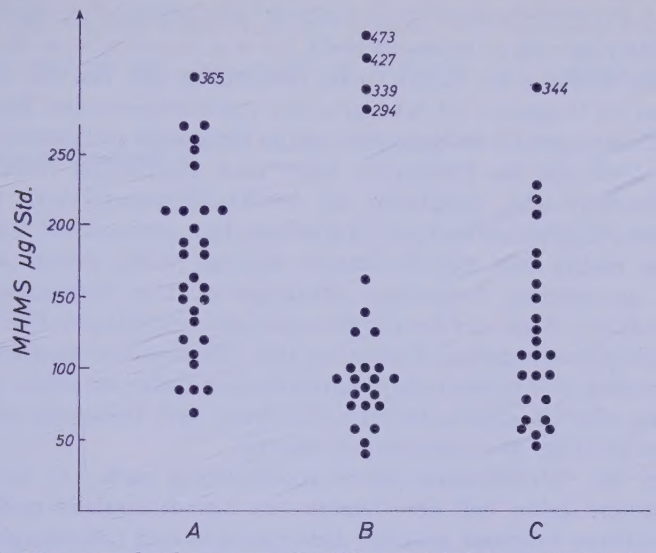

Abbildung 1: Harnausscheidung von Vanillinmandelsäure (MHMS) bei nüchternen Probanden während der Vormittagsstunden. A = gesunde Versuchspersonen, B = Patienten mit Leberkrankheiten, C = lebergesunde Klinikpatienten mit anderen Krankheiten.

Nach i.v. Injektion von Glukagon reagierten 12 von 23 Lebergesunden mit einem Anstieg der Vanillinmandelsäure-Exkretion um mehr als 30% des Ausgangswertes; 7mal blieben die Werte konstant, 4mal kam es zu einem Absinken.
Bei 23 Leberkranken beobachteten wir 8mal erhöhte, 14mal unveränderte und in 1 Fall verminderte Elimination der Phenolsäure mit dem Harn. Eine Abhängigkeit der Reaktion des glykogenolytischen Hormons vom Ausgangswert der Vanillinmandelsäure-Ausscheidung, von der klinischen Diagnose und von der Schwere der Krankheit und eine Korrelation zu den Blutzuckerwerten waren auszuschließen. Für die gesamte Gruppe lebergesunder und leberkranker Probanden war der Anstieg von 138 ± 99 µg Vanillinmandelsäure/Std. auf 192 ± 142 µg/Std. nach Glukagon-Injektion statistisch wahrscheinlich ($P < 0{,}05$).
Vanillinsäure ließ sich nach 12stündiger Nahrungskarenz in 60 von 84 Untersuchungen nicht sicher nachweisen. In 13 Fällen fanden wir Spuren, in 11 Versuchen Mengen der Phenolsäure, die 10–30% der Konzentration an Vanillinmandelsäure entsprachen. Bei der p-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxymandelsäure sowie der Ferulasäure und einigen nicht identifizierten Phenolsäuren ergaben sich bei Lebergesunden und Leberkranken erhebliche Schwankungen. Die Ausscheidung dieser Phenolsäuren im Harn schien mit der Zusammensetzung der Nahrung zusammenzuhängen (vgl. *16*).

Diskussion

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß bei Krankheiten der Leber keine spezifische Veränderung der O-Methyltransferase-Aktivität besteht. Die Ausscheidung des Katecholamin-Metaboliten Vanillinmandelsäure war bei lebergesunden und leberkranken bettlägerigen Patienten vermindert; dem entspricht das Verhalten der Noradrenalin-Ausscheidung in den Untersuchungen von *Sundin [17]* bei Horizontallage der Probanden. Die bisher niedrigsten Tageswerte der Vanillinmandelsäure-Ausscheidung beobachteten wir bei 4 Kranken mit einer Tetraplegie (0,1—0,6 mg/24 Std.).

Eine Mehrausscheidung der Vanillinsäure bestand bei den von uns untersuchten Leberkranken im Gegensatz zu den Befunden von *Hartmann* und *Ruge [7]* nicht. In Übereinstimmung mit *v. Studnitz [18]* und im Gegensatz zu *Coward [3]* konnten wir bei der Mehrzahl der Probanden schon nach 12stündiger Nahrungskarenz keine Vanillinsäure oder, verglichen mit der Vanillinmandelsäure, nur geringe Mengen dieser Phenolsäure im Harn nachweisen. Der „endogenen" Vanillinsäure, die aus dem Abbau von Katecholaminen stammt *[5,10]*, scheint somit keine wesentliche quantitative Bedeutung zuzukommen. Das Vorkommen anderer Harnphenolsäuren schien von der Ernährungsweise abzuhängen. Für die Beurteilung der pathophysiologischen Bedeutung des „Phenolsäure-Musters" im Harn bei Leberkranken *[6,7]* müssen die Untersuchungen daher entweder am nüchternen Patienten oder bei standardisierter Kost bzw. nach Belastung mit einzelnen Aminosäuren *(Müting, 9)* vorgenommen werden.

Der Anstieg der Vanillinmandelsäure-Ausscheidung nach i.v. Injektion von Glukagon spricht dafür, daß der Umsatz von Katecholaminen nach Gabe des glykogenolytischen Hormons ansteigt. Lebergesunde und Leberkranke reagieren fast gleichartig. Glukagon entfaltet daher seinen Effekt auf den Glukosestoffwechsel nicht ausschließlich über eine direkte Wirkung an der Leberzelle, sondern wahrscheinlich auch indirekt durch Liberierung von Katecholaminen (vgl. *15*). Ergänzende Untersuchungen über die Ausscheidung von Noradrenalin und Adrenalin im Harn sowie über das Verhalten der Plasma-Katecholaminspiegel sind beim Menschen noch erforderlich.

Zusammenfassung: Leberkranke und lebergesunde Klinikpatienten scheiden im Vergleich zu gesunden Normalpersonen weniger Vanillinmandelsäure mit dem Harn aus. Die Verminderung des Katecholaminumsatzes ist durch Einhaltung der Bettruhe bedingt. „Endogene" Vanillinsäure ist bei Lebergesunden und Leberkranken nur in Spuren nachweisbar. Das Phenolsäure-Muster des Harns hängt von der Ernährung ab. Glukagon kann den Umsatz der Katecholamine bei lebergesunden und leberkranken Patienten steigern.

Literatur

1. *Axelrod J.*: Science *126* (1957) 400. 2. *Axelrod J., J. K. Inscoe, S. Senoh* u. *B. Witkop*: Biochim. biophys. acta *27* (1958) 210. – 3. *Coward R. F., P. Smith, O. S. Wilson* u. *R. Robinson*: Nature *193* (1962) 1295. – 4. *Davidson I. W. F.* u. *J. M. Salter*: Fed. Proc. *17* (1958) 208. – 5. *Dirscherl W., H. Thomas* u. *H. Schriefers*: Acta endocrin. *39* (1962) 385. – 6. *Hartmann F.*: Klin. Wschr. *39* (1961) 273. – 7. *Hartmann F.* u. *W. Ruge*: Dtsch. Arch. klin. Med. *208* (1962) 298. – 8. *La Brosse E. H., J. Axelrod* u. *S. S. Kety*: Science *128* (1958) 593. – 9. *Müting D.*: Dtsch. med. Wschr. *88* (1963) 130. – 10. *Rosen L.* u. *Mc C. Goodall*: Proc. Soc. exp. Biol. Med. *110* (1962) 767. – 11. *Schmid E., K. Bachmann, H. Haas, K. Schmerwitz, G. Süss, P. Winter* u. *L. Zicha*: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. *70* (1964) im Druck. – 12. *Schmid E., H. Haas, N. Henning, K. Meythaler* jr. u. *H. Schön*: Klin. Wschr. *40* (1962) 1229. – 13. *Schmid E.* u. *N. Henning*: Klin. Wschr. *41* (1963) 566. – 14. *Schmid E., U. Rosenbusch, K. Heinkel, K. Schwemmle* u. *H. Schön*: Gastroenterologia *96* (1961) 275. – 15. *Scian L. F., C. D. Westermann, A. S. Verdesca* u. *J. G. Hilton*: Am. J. Physiol. *190* (1960) 867. – 16. *Shaw K. N. F.* u. *J. Trevarthen*: Nature *182* (1958) 797. – 17. *Sundin T.*: Acta med. scand. 161, suppl. *336* (1958). – 18. *v. Studnitz W., K. Engelman* u. *A. Sjoerdsma*: Clin. chim. acta *9* (1964) 224.

Priv.-Doz. Dr. E. Schmid, Dr. L. Zicha, Dr. W. John, Medizinische Univ.-Klinik, 852 Erlangen, Krankenhausstraße 12.

Für die Überlassung des Themas, die Übernahme des Referates und für die Arbeitsmöglichkeit an seiner Klinik möchte ich Herrn Professor Dr. N. Henning an dieser Stelle herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Priv. Doz. Dr. E. Schmid und Herrn Dr. L. Zicha für die mir jederzeit gewährte wertvolle Unterstützung und Beratung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 20.2.1928 wurde ich als Sohn des Strickers Georg John und seiner Ehefrau Christine, geb. Müller, in Eschwege geboren.
Von 1934 bis 1942 besuchte ich die Volksschule in Eschwege, anschließend bis 1944 die Lehrerbildungsanstalt in Bonn/Rh.
Im September 1944 wurde ich als Fronthelfer verpflichtet und im Januar 1945 zum RAD. einberufen, dem ich bis zum Kriegsende angehörte.
1946 trat ich in die Oberschule in Eschwege ein und legte 1949 die Reifeprüfung ab. Im Anschluß daran war ich bis 1951 als Bauhilfsarbeiter tätig.
1951/53 und 1956/57 volkswirtschaftliches Studium an den Universitäten Marburg und Erlangen. Von 1953 bis 1955 war ich als Kaufmann angestellt.
Im Sommer-Semester 1958 begann ich das Medizinstudium an der Universität Erlangen, wo ich 1960 die Ärztliche Vorprüfung und am 18.2.64 das Staatsexamen ablegte.